

岛津 Nexera LC-40 应用于黄芩配方颗粒特征图谱的分析

LC-204

摘要： 本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，参考国家药典委员会公示的《黄芩配方颗粒》质量标准中的分析条件对黄芩配方颗粒的特征图谱进行了分析。实验结果显示：黄芩苷色谱峰的理论塔板数为 85235，符合系统适用性要求；空白溶液在黄芩 7 个特征峰位置无明显色谱峰，不干扰分析测定；黄芩对照药材参照物溶液连续 6 次进样，各峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.01%~0.06% 和 0.32%~0.92% 之间，仪器精密度良好；供试品色谱图与对照药材参照物色谱图中特征峰的保留时间一致，峰 2 与黄芩苷对照品参照物峰的保留时间相对应，且各特征峰相对保留时间在规定范围内，符合《黄芩配方颗粒》质量标准相关规定。

关键词： Nexera LC-40 高效液相色谱仪 黄芩配方颗粒 特征图谱

黄芩别名山茶根、土金茶根。为唇形科植物黄芩 (*Scutellaria baicalensis* Georgi)，以根入药。有清热燥湿，凉血安胎，解毒功效。主治温热病、上呼吸道感染、肺热咳嗽、湿热黄胆、肺炎、痢疾、咳血、目赤、胎动不安、高血压、痈肿疔疮等症。黄芩临床表现出明显的抗菌抗病毒作用，而且不产生抗药性。此外，黄芩还是本次战“疫”的关键药味之一，频频出现在中医处方中，通过和其他多味药材组合的中医方剂，多成分、多靶点及多途径协同作用于机体，最终形成其独特的药理作用，对临床轻型和普通型新型冠状病毒肺炎 (Corona Virus Disease 2019, COVID-19) 感染者有良好的治疗作用。

中药特征图谱是一种多指标的质量控制模式，它可以比较全面的反映所含化学成分的种类和数量，从而全面、综合地反映和控制中药的质量。目前中药特征图谱的测定方法较多，以色谱法和光谱法为主。其中，高效液相色谱法以其强大的分离能力和快捷的分析速度而成为目前研究中药化学特征图谱的常用方法，并在多版《中国药典》的指纹图谱及特征图谱分析中得到了广泛的应用。

本实验使用 Nexera LC-40 高效液相色谱系统对黄芩配方颗粒的特征图谱进行分析，该系统稳定性好，重复性高，特征图谱满足《黄芩配方颗粒》质量标准，能够为黄芩配方颗粒质量控制提供帮助。

■ 实验部分

1.1 仪器

本实验采用岛津 Nexera LC-40 液相色谱仪，包括 CBM-40A Lite 系统控制器，DGU-405 脱气机，LC-40B XR 输送泵，SIL-40C XR 自动进样器，CTO-40S 柱温箱，SPD-M40 检测器，LabSolutions Ver. 5.98 色谱工作站。



图 1 岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱仪

1.2 分析条件

色谱柱：Endeavorsil C18 色谱柱（150 mm× 2.1 mm I.D., 1.8 μm）

流动相：A：0.1% 磷酸水溶液； B：乙腈

流速：0.3 mL/min

柱温：30°C

检测波长：280 nm

进样体积：1 μL

洗脱方式：梯度洗脱，B 相起始浓度为 2%，时间程序如表 1 所示。

表 1 梯度洗脱时间程序

Time(min)	Module	Command	Value
2.00	Pumps	Pump B Conc.	2
5.00	Pumps	Pump B Conc.	17
10.00	Pumps	Pump B Conc.	25
20.00	Pumps	Pump B Conc.	25
25.00	Pumps	Pump B Conc.	45
29.00	Pumps	Pump B Conc.	50
32.00	Pumps	Pump B Conc.	70
33.00	Pumps	Pump B Conc.	2
38.00	Controller	Stop	

■ 样品前处理

对照药材参照物溶液的制备：取黄芩对照药材 0.1 g，置具塞锥形瓶中，加入 70% 甲醇 25 mL 密塞，超声处理 20 分钟，放冷，摇匀，滤过，取续滤液，作为对照药材参照物溶液。

对照品参照物溶液的制备：取黄芩苷对照品适量，精密称定，加甲醇制成 1 ml 含 60 μg 的溶液，作为对照品参照物溶液。

供试品溶液的制备：取 0.1 g，同“对照药材参照物溶液”制备方法制成供试品溶液。

■ 结果与讨论

3.1 特征图谱

按照 1.2 中色谱分析条件，对空白溶剂、对照品参照物溶液、对照药材参照物溶液和供试品溶液分别上机分析，空白溶剂色谱图如图 1，目标物出峰处无干扰。黄芩苷对照品参照物溶液谱图见图 2，黄芩对照药材参照物溶液特征图谱和供试品溶液色谱图见图 3、4 所示。

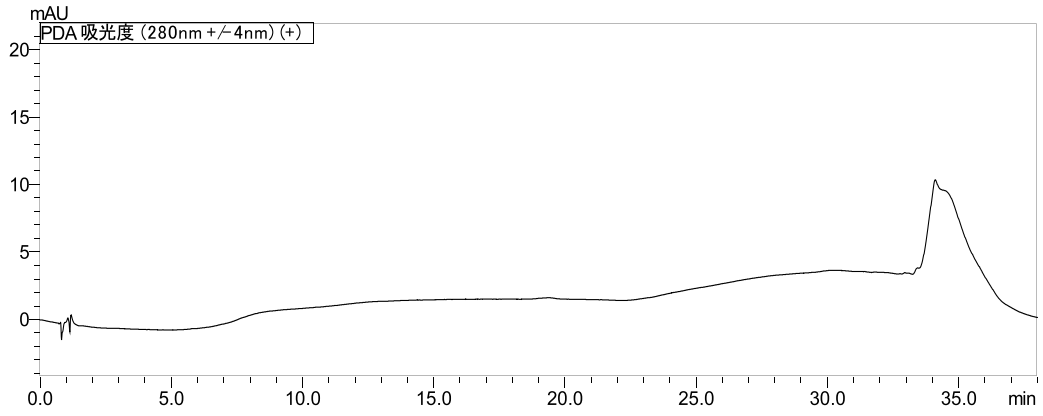


图 1 空白溶剂色谱图

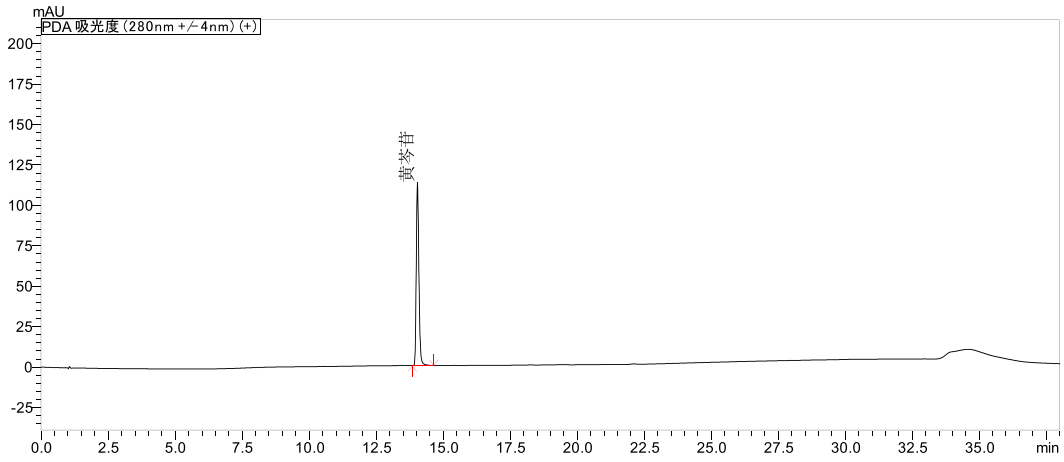
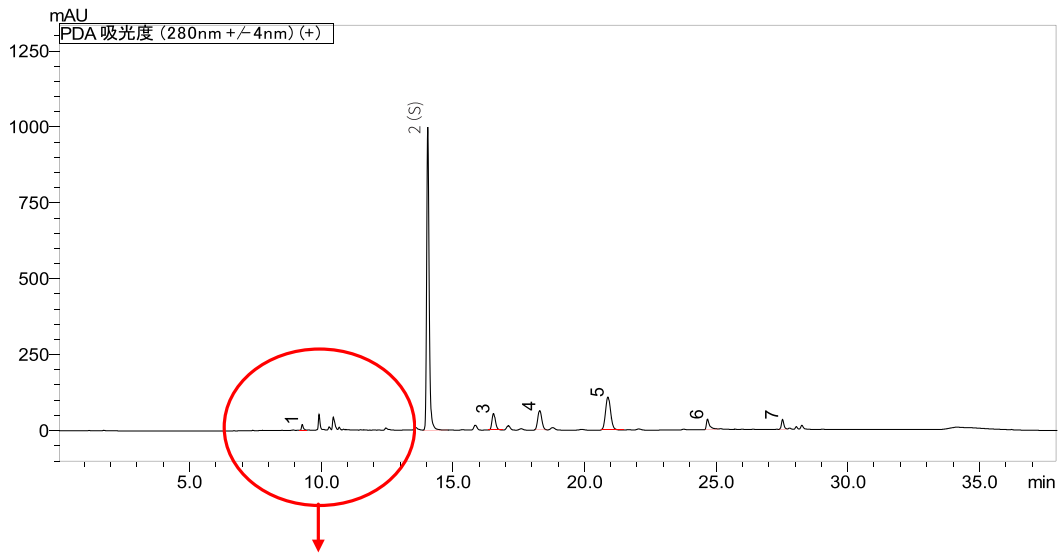


图 2 对照品参照物溶液色谱图



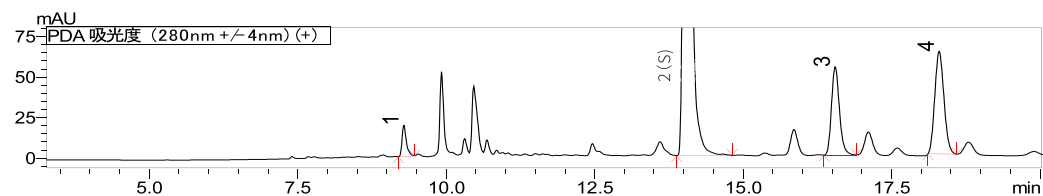


图3 对照药材参照物溶液特征图谱

注：峰 2 (S)：黄芩苷 峰 5：汉黄芩苷 峰 6：黄芩素 峰 7：汉黄芩素

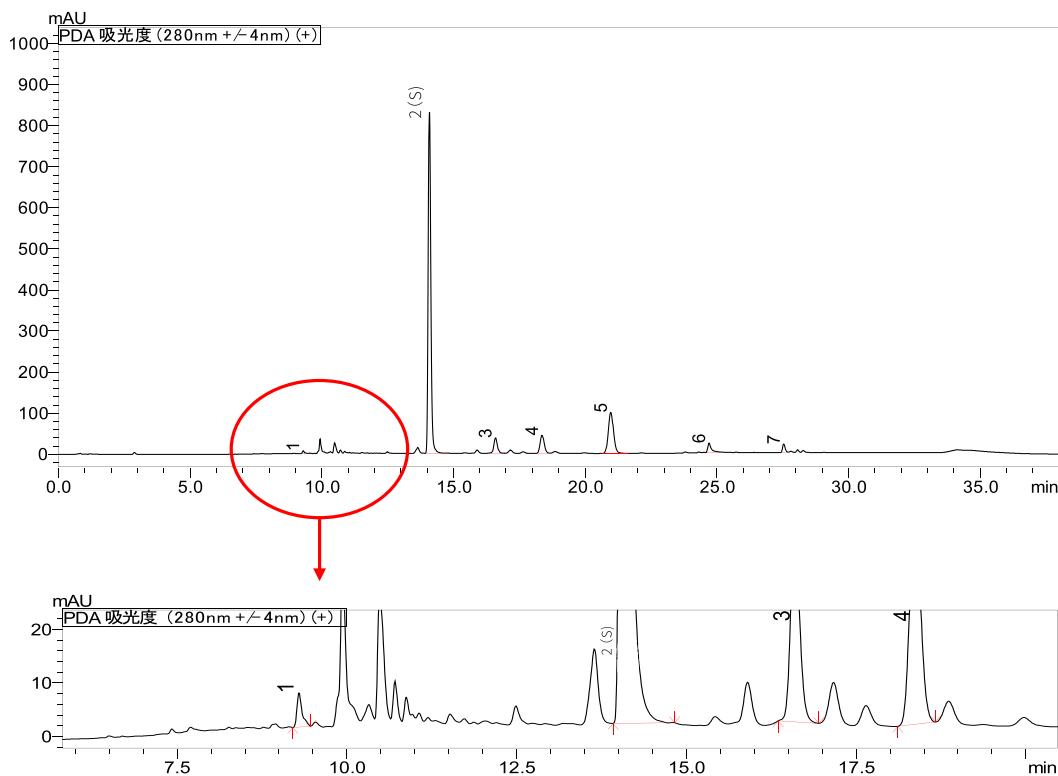


图4 供试品溶液色谱图

注：峰 2 (S)：黄芩苷 峰 5：汉黄芩苷 峰 6：黄芩素 峰 7：汉黄芩素

3.2 系统适用性考察结果

以黄芩苷作为对照品参照物，其理论塔板数为 85235，公示稿质量标准系统适用性项下规定黄芩苷的理论塔板数不得低于 5000，本实验结果质量标准规定。

3.3 供试品和对照药材参照物特征图谱对比结果

按照国家药典委员会公示的《黄芩配方颗粒》质量标准相关规定，供试品色谱中应呈现 7 个特征峰，并应与对照药材参照物色谱中的 7 个特征峰保留时间相对应，其中峰 2 应与黄芩苷对照品参照物峰保留时间相对应。以黄芩苷参照物相应的峰为 S 峰，计算各特征峰与 S 峰的相对保留时间，其相对保留时间应在规定值的 $\pm 10\%$ 之内。规定值为：0.65（峰 1）、1.19（峰 3）、1.32（峰 4）、1.51（峰 5）、1.76（峰 6）、1.97（峰 7）。实际测定结果见表 2，均满足质量标准相关规定。

表 2 供试品和对照药材参照物特征图谱对比结果

特征峰名称	供试品特征峰 保留时间 (min)	供试品特征峰 与 S 峰相对 保留时间	相对保留 时间允许范围 (min)	对照药材参照物 特征峰保留时间 (min)	黄芩苷对照品 参照物保留时间 (min)
峰 1	9.295	0.66	0.59-0.72	9.286	
峰 2 (黄芩苷)	14.087	1.00	1.00	14.050	
峰 3	16.598	1.18	1.07-1.31	16.550	
峰 4	18.366	1.30	1.19-1.45	18.301	14.038
峰 5 (汉黄芩苷)	20.977	1.49	1.36-1.66	20.894	
峰 6 (黄芩素)	24.703	1.75	1.58-1.94	24.674	
峰 7 (汉黄芩素)	27.544	1.96	1.77-2.17	27.523	

3.4 精密度实验

Nexera LC-40 液相色谱系统采用更加节约空间的二元输液泵一体化设计, 最大耐压 70 MPa, 可轻松实现延时短且精度高的高压梯度, 流量精确度的误差在 0.06%。本实验中将黄芩对照药材参照物溶液连续进样 6 次, 考察仪器精密度。7 个特征峰的保留时间和峰面积 RSD 值分别在 0.01%~0.06% 和 0.32%~0.92% 之间, 仪器精密度良好, 详见图 5 和表 3。

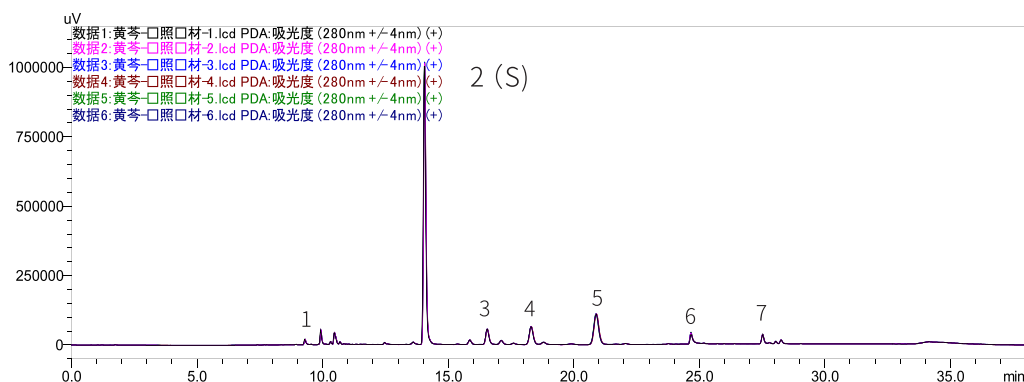


图 5 黄芩对照药材参照物溶液精密度测试色谱图 (n=6)

表 3 黄芩对照药材参照物溶液精密度测试结果 (n=6)

特征峰名称	保留时间 RSD (%)	峰面积 RSD (%)
峰 1	0.06	0.32
峰 2 (黄芩苷, S 峰)	0.04	0.64
峰 3	0.03	0.72
峰 4	0.03	0.72
峰 5 (汉黄芩苷)	0.04	0.92
峰 6 (黄芩素)	0.02	0.65
峰 7 (汉黄芩素)	0.01	0.82

■ 结论

本文采用岛津 Nexera LC-40 高效液相色谱系统，对黄芩配方颗粒的特征图谱进行了分析。结果表明，黄芩苷色谱峰的理论塔板数为 85235，符合系统适用性要求；空白溶液在黄芩 7 个特征峰位置无明显色谱峰，不干扰分析测定；黄芩对照药材参照物溶液连续 6 次进样，各峰保留时间和峰面积的 RSD 分别在 0.01%~0.06% 和 0.32%~0.92% 之间，仪器精密度良好；供试品色谱图与对照药材参照物色谱图中特征峰的保留时间一致，峰 2 与黄芩苷对照品参照物峰的保留时间相对应，且各特征峰相对保留时间在规定范围内，符合《黄芩配方颗粒》质量标准相关规定。综上，本系统满足黄芩配方颗粒的特征图谱分析要求。

岛津应用云

